

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-356272

(43)Date of publication of application : 26.12.2001

(51)Int.Cl.

G02B 21/00
G01N 21/64
G02B 26/10
// G01B 9/04

(21)Application number : 2000-175630

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 12.06.2000

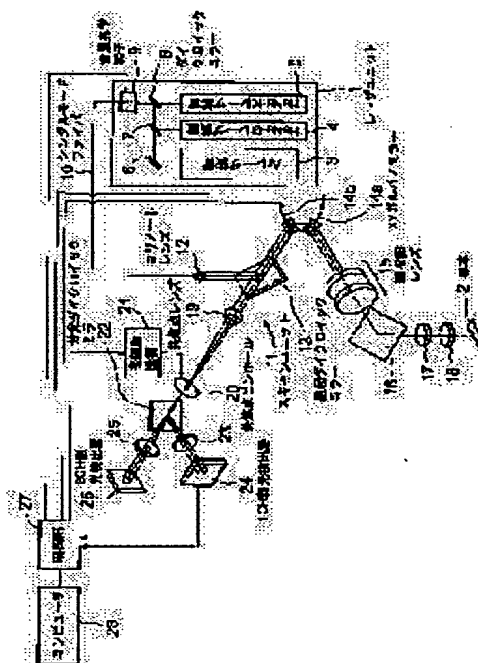
(72)Inventor : SASAKI HIROSHI

(54) METHOD FOR OBTAINING IMAGE AND SCANNING TYPE OPTICAL MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain confocal effect which has no cross talk in all fluorescent rays and is most suitable to every detected fluorescent ray when plural fluorescent rays are detected.

SOLUTION: On an outward way of a X galvanomirror 14a, laser wavelength 488 nm is selected and opening/closing control is executed to attain confocal pinhole radius of 105 . m which is the most suitable to the fluorescent ray by fluorescent pigment FITC. On way back, laser wavelength 633 nm is selected and opening/closing control is executed to attain confocal pinhole radius of 135 . m which is most suitable to the fluorescent ray by fluorescent pigment Cy5.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

Best Available Copy

7/8

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-356272

(P 2 0 0 1 - 3 5 6 2 7 2 A)

(43) 公開日 平成13年12月26日(2001.12.26)

(51) Int. Cl. 7	識別記号	F I	テラト* (参考)
G 0 2 B 21/00		G 0 2 B 21/00	2F064
G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	E 2G043
			F 2H045
G 0 2 B 26/10	1 0 4	G 0 2 B 26/10	1 0 4 2H052
// G 0 1 B 9/04		G 0 1 B 9/04	
審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 18 頁)			

(21) 出願番号 特願2000-175630(P2000-175630)

(22) 出願日 平成12年6月12日(2000. 6. 12)

(71) 出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72) 発明者 佐々木 浩

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリン
パス光学工業株式会社内

(74) 代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

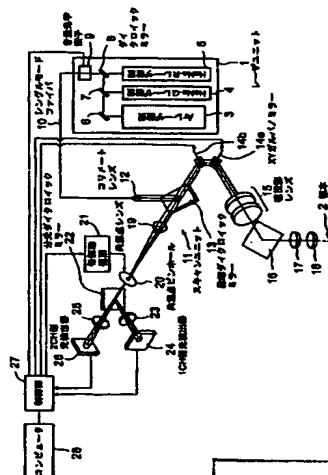
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 画像取得方法及び走査型光学顕微鏡

(57) 【要約】

【課題】 複数の蛍光を検出するときに、全ての蛍光においてクロストークがなく、かつ検出する蛍光毎に最適な共焦点効果を得ること。

【解決手段】 Xガルバノミラー14aの往路においてレーザ波長488nmを選択すると共に、蛍光色素FITCによる蛍光に最適な共焦点ピンホール径105 μ mに開閉制御し、復路においてレーザ波長633nmを選択すると共に、蛍光色素Cy5による蛍光に最適な共焦点ピンホール径135 μ mに開閉制御する。



JP03-0065-00W0-HP
03. 8. 12
SEARCH REPORT

【特許請求の範囲】

【請求項1】 2種類以上の蛍光色素で染色された標本に対して前記各蛍光色素に対応する励起波長の励起光を光走査手段に同期して切り換えて照射し、前記各励起光に対応する各々の蛍光を時分割で1つの共焦点ピンホールを介して検出して1つの画像を取得する画像取得方法において、

前記励起光の切換に同期して前記共焦点ピンホールのピンホール径を前記励起光により前記標本から発せられる蛍光に適した径に調整することを特徴とする画像取得方法。

【請求項2】 2種類以上の蛍光色素で染色された標本に対して前記各蛍光色素に対応する励起波長の励起光を選択的に出力できる光源と、

この光源から出力された前記励起光を走査する走査手段と、

この走査手段で走査された前記励起光を標本上に集光する対物レンズと、

この対物レンズにより集光された励起光により該励起光に対応する前記蛍光色素の蛍光を検出する検出器と、

この検出器の前に配置されるピンホール径が調整可能な1つの共焦点ピンホールと、

前記走査手段の走査に同期して前記標本に対して照射する前記励起光を切り換えることにより、前記各励起光に対応する各々の蛍光を時分割で前記共焦点ピンホールを介して検出して1つの画像を取得する場合に、前記光源からの前記励起光の切り換えに同期して、前記共焦点ピンホールのピンホール径を前記励起光により前記標本から発せられる前記蛍光に適した径に調整する制御手段と、を具備したことを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【請求項3】 前記制御手段による前記励起光の切り換えは、前記光走査手段による往復走査の往路と復路との走査に各々同期することを特徴とする請求項2記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項4】 前記制御手段による前記励起光の切り換えは、前記光走査手段による1フレーム毎の走査に同期することを特徴とする請求項2記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項5】 前記制御手段による前記励起光の切り換えは、前記光走査手段による1画素毎の走査に同期することを特徴とする請求項2記載の走査型光学顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、2種類以上の蛍光を発する標本すなわち多重染色蛍光標本に対して励起光を対物レンズにより集光して光スポットとして照射し、この標本から発せられた各蛍光をピンホールを通して光検出器で検出して標本の画像を取得する画像取得方法及び走査型光学顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】 このような走査型光学顕微鏡は、例えば特開平8-43739号公報にその技術が記載されている。この走査型光学顕微鏡は、標本と共役な位置に1つの共焦点ピンホールを配置し、標本に光スポットを走査したときの標本から発した複数の蛍光を共焦点ピンホールに導き、この後に、これら蛍光をダイクロイックミラーやグレーティング等によりそれぞれ光路分割し、それぞれの光路に配置された各光検出器により各蛍光を検出するようにしたものである。

10 【0003】 ところが、複数の蛍光を同時に取得しようとする、短波長側の蛍光色素から発せられる蛍光波長と長波長側の蛍光色素から発せられる蛍光波長とがオーバーラップするため、2種類以上の蛍光色素で染色された標本において、例えば図7に示すように蛍光色素FITCでは励起波長488nmで励起して中心波長520nmの蛍光が発せられ、蛍光色素Cy5では励起波長633nmで励起して中心波長670nmの蛍光が発せられ、これら蛍光波長はオーバーラップし、長波長側の蛍光(Cy5)を検出する検出器に、短波長側の蛍光(FITC)が混入するという蛍光クロストークと呼ばれる現象が起こる。

20 【0004】 この蛍光クロストークを回避する技術としては、例えば特開平10-206745号公報に記載されたものがある。この技術では、2種類以上の蛍光色素で染色された標本を励起するための各励起波長の切り替えと、これら蛍光を検出するときに使用する各検出器への光路の切り替え、言い換えれば、各検出器の切り替えを、光走査に同期して行うことによりそれぞれの蛍光を時分割で検出して蛍光クロストークを回避するようにしている。

30 【0005】 このときの標本の画像取得方法としては、コンピュータによる画像取得の指令に対して励起波長と検出光路との切り替えを、1フレーム走査毎、1ライン毎、又は1画素受光中に行い、それぞれの蛍光を時分割で検出して画像取得するようにしている。又、例えばZEISS社の製品カタログには、光走査手段である高速走査側のガルバノミラーを往復走査して、波長選択用の音響光学素子(AOTF)により、往路と復路で励起波長を切り替え、往路と復路とで別々の蛍光を検出することで蛍光クロストークを回避するようなものが開示されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、上記走査型光学顕微鏡では、共焦点ピンホール径と、この共焦点ピンホール上に結像する各蛍光波長毎の光スポットの径(回折光)の大きさとの違いにより共焦点の効果が異なる。

40 【0007】 共焦点効果としての解像を追求すれば、共焦点ピンホール径は無限小が最適であるが、蛍光量は非常に少ないので、その共焦点ピンホールを通過する検出

光が微弱となりSNの良い画像の取得は望めない。そこで、明るさと光軸方向の共焦点効果を最適化するために、共焦点ピンホール径の大きさを回折径の大きさに合

$$d = 1.22 \lambda / \text{NA}$$

ここで、 λ は検出する蛍光の中心波長、NAは共焦点ピンホールに入射する蛍光光束のNAである。

【0009】この式(1)に、検出する蛍光波長 λ 、対物レンズにより決まる共焦点ピンホールに入射する蛍光光束のNAを代入して求めた回折径 d に共焦点ピンホール径を合わせればよい。

【0010】しかし、上記技術では、標本から発せられる複数の蛍光は、1つの共焦点ピンホールを通過する構成なので、1つの励起波長に対する蛍光にしか共焦点ピ

$$\begin{aligned} \text{共焦点ピンホール径} &= 1.22 \lambda / \text{NA} \\ &= 1.22 \times 0.52 / 0.006 \\ &= 105 \mu\text{m} \end{aligned}$$

又、Cy5の蛍光に対して最適な共焦点ピンホール径は下記ようになる。

$$\begin{aligned} \text{共焦点ピンホール径} &= 1.22 \lambda / \text{NA} \\ &= 1.22 \times 0.67 / 0.006 \\ &= 135 \mu\text{m} \end{aligned}$$

このため、共焦点ピンホール径を105 μm に設定すると、FITCの蛍光にとっては最適な共焦点ピンホール径になるが、Cy5の蛍光にとっては、共焦点ピンホール径が小さ過ぎて明るい蛍光画像の取得ができない。

【0013】又、共焦点ピンホール径を135 μm に設定すると、Cy5の蛍光にとっては最適な共焦点ピンホール径になるが、FITCの蛍光にとっては、焦点ピンホール径が大きすぎ、共焦点効果が少なくなってしまう。

【0014】そこで本発明は、複数の蛍光を検出するときに、全ての蛍光においてクロストークがなく、かつ検出する蛍光毎に最適な共焦点効果を得ることができる画像取得方法及び走査型光学顕微鏡を提供することを目的とする。

【0015】

【課題を解決するための手段】請求項1記載による本発明は、2種類以上の蛍光色素で染色された標本に対して前記各蛍光色素に対応する励起波長の励起光を光走査手段に同期して切り換えて照射し、前記各励起光に対応する各々の蛍光を時分割で1つの共焦点ピンホールを介して検出して1つの画像を取得する画像取得方法において、前記励起光の切換に同期して前記共焦点ピンホールのピンホール径を前記励起光により前記標本から発せられる蛍光に適した径に調整することを特徴とする画像取得方法である。

【0016】請求項2記載による本発明は、2種類以上の蛍光色素で染色された標本に対して前記各蛍光色素に対応する励起波長の励起光を選択的に出力できる光源と、この光源から出力された前記励起光を走査する走査

わせるようにしている。回折径 d の大きさは下記の式で求められる。

【0008】

…(1)

ンホール径を合わせることができない。例えば、FITCは励起波長488nmで励起すると中心波長520nmの蛍光が発せられ、Cy5は励起波長633nmで励起すると中心波長670nmの蛍光が発せられるので、共焦点ピンホールに入射する蛍光のNAを0.006とすると、FITCの蛍光に対して最適な共焦点ピンホール径は下記ようになる。

【0011】

【0012】

…(2)

…(3)

手段と、この走査手段で走査された前記励起光を標本上に集光する対物レンズと、この対物レンズにより集光された励起光により該励起光に対応する前記蛍光色素の蛍光を検出する検出器と、この検出器の前に配置されるピンホール径が調整可能な1つの共焦点ピンホールと、前記走査手段の走査に同期して前記標本に対して照射する前記励起光を切り換えることにより、前記各励起光に対応する各々の蛍光を時分割で前記共焦点ピンホールを介して検出して1つの画像を取得する場合に、前記光源からの前記励起光の切り換えに同期して、前記共焦点ピンホールのピンホール径を前記励起光により前記標本から発せられる前記蛍光に適した径に調整する制御手段と、を具備したことを特徴とする走査型光学顕微鏡である。

【0017】請求項3記載による本発明は、請求項2記載の走査型光学顕微鏡において、前記制御手段による前記励起光の切り換えは、前記光走査手段による往復走査の往路と復路との走査に各々同期することを特徴とする。

【0018】請求項4記載による本発明は、請求項2記載の走査型光学顕微鏡において、前記制御手段による前記励起光の切り換えは、前記光走査手段による1フレーム毎の走査に同期することを特徴とする。

【0019】請求項5記載による本発明は、請求項2記載の走査型光学顕微鏡において、前記制御手段による前記励起光の切り換えは、前記光走査手段による1画素毎の走査に同期することを特徴とする。

【0020】

【発明の実施の形態】(1)以下、本発明の第1の実施の形態について図面を参照して説明する。

【0021】図1は走査型光学顕微鏡の構成図である。レーザユニット1は、2種類以上の蛍光色素で染色された標本（多重染色蛍光標本）2に対し、その励起波長の各励起レーザ光を出力するものである。このレーザユニット1は、励起波長488nmの励起レーザ光を発振するArレーザ装置3と、励起波長543nmの励起レーザ光を発振するHeNe-Gレーザ装置4と、励起波長633nmの励起レーザ光を発振するHeNe-Rレーザ装置5と、ミラー6と、波長488nmと波長543nmの二つの波長の励起レーザ光を合成するダイクロイックミラー7と、波長488nmと波長543nmと波長633nmの励起レーザ光を合成するダイクロイックミラー8と、各波長488nm、543nm、633nmのうち任意の波長の励起レーザ光を選択するための音響光学素子（AOTF）9とから構成されている。

【0022】このレーザユニット1から出力される励起レーザ光、すなわちAOTF9により選択された励起波長の励起レーザ光は、シングルモードファイバ10を通してスキャンユニット11に導かれている。このシングルモードファイバ10の出射端にはコリメートレンズ12が配置され、シングルモードファイバ10より出射された励起レーザ光が平行光に整形されるようになっている。

【0023】励起ダイクロイックミラー13は、コリメートレンズ12により平行光に整形された励起レーザ光の光路上に配置され、各励起波長488nm、543nm、633nmの各励起レーザ光を反射し、かつ標本2から発せられた蛍光の波長を透過する特性を有するものである。

【0024】X・Yガルバノミラー14a、14bは、励起ダイクロイックミラー13の反射光路上に配置され、各励起波長488nm、543nm、633nmの各励起レーザ光を標本2上を2次元方向（XY方向）に走査するためのものである。

【0025】これらX・Yガルバノミラー14a、14bから標本2までの走査光路上には、瞳投影レンズ15、ミラー16、さらに結像レンズ17、標本2上に光スポットを結ぶ対物レンズ18が配置されている。

【0026】標本2から発せられた蛍光は、上記照明光路とは逆方向、すなわち対物レンズ18から結像レンズ17、ミラー16、瞳投影レンズ15、X・Yガルバノミラー14a、14bに進み、励起ダイクロイックミラー13を透過して共焦点レンズ19に入射するものとなっている。

【0027】この共焦点レンズ19の結像位置には、共焦点ピンホール20が配置されている。この共焦点ピンホール20は、その内径の大きさが調整自在（開閉自在）な構成となっている。この共焦点ピンホール20は、例えば電動機構からなる径駆動機構21により、例えば各励起波長488nm、543nm、633nmの

各励起レーザ光を標本2に照射したときに、この標本2から発せられる各蛍光波長に応じた最適なピンホール径に調整する制御を行うもの（開閉制御）となっている。

【0028】この共焦点ピンホール20を通過した蛍光（検出光）の光路上には、分光ダイクロイックミラー22が配置されている。この分光ダイクロイックミラー22は、例えば波長570nmより短い波長の蛍光（励起波長488nmの励起で取得される蛍光）と、波長570nmより長い波長の蛍光（励起波長543nm又は633nmの励起で取得される蛍光）とに分ける特性を有している。

【0029】この分光ダイクロイックミラー22の反射光路（波長570nmより短い波長の蛍光）上には、レーザ光の反射光をカットして取得したい波長の蛍光の領域を設定するバリアフィルタ23を介して1CH側光検出器24が配置され、かつ透過光路（波長570nmより長い波長の蛍光）上には、レーザ光の反射光をカットして取得したい波長の蛍光の領域を設定するバリアフィルタ25を介して2CH側光検出器26が配置されている。

【0030】制御部27は、コンピュータ28から実行の指令が入力されると、図2に示す画像取得制御フローチャートに従って、レーザユニット1からArレーザ装置3、HeNe-Gレーザ装置4又はHeNe-Rレーザ装置5を選択し、X・Yガルバノミラー14a、14bを走査駆動し、かつ共焦点ピンホール20のピンホール径を開閉制御し、1CH側光検出器24から取り込んだ蛍光色素FITCによる信号と2CH側光検出器26から取り込んだ蛍光色素Cy5による信号とを色分けし、例えばモニターに1つの多重染色蛍光画像として表示する機能を有している。

【0031】コンピュータ28は、観察者が制御部27に対して観察開始の指令を与えるためのものである。

【0032】次に、上記の如く構成された走査型光学顕微鏡での画像取得方法について図2に示す画像取得制御フローチャートに従って説明する。

【0033】ここでは、蛍光色素FITCとCy5とで2重蛍光染色された標本2を、往復走査する高速走査側のXガルバノミラー14aによる往路で蛍光色素FITCに対応する蛍光を検出し、復路で蛍光色素Cy5に対応する蛍光を検出するという時分割で2種類の蛍光を観察する方法について説明する。

【0034】この観察の概略を説明すると、Xガルバノミラー14aにより水平方向の走査を行い、Yガルバノミラー14bにより垂直方向の走査を行うものとする。このうちのXガルバノミラー14aによる水平方向での往復走査を行うときのその往路で1ライン上の各画素位置での蛍光色素FITCに対応する蛍光を1CH側光検出器24で検出し、復路で往路の1ラインと同一ライン上の各画素位置での蛍光色素Cy5に対応する蛍光を2

CH側光検出器26で検出する。次に、Yガルバノミラー14bにより標本2上に光スポットを垂直方向に1画素分走査する。次に、上記同様にXガルバノミラー14aの往復走査においてその往路で蛍光色素FITCに対応する蛍光を1CH側光検出器24で検出し、復路で蛍光色素Cy5に対応する蛍光を2CH側光検出器26で検出する。これらの走査と検出とを垂直方向に走査しながら繰り返すものとなる。

【0035】次に、観察者が、この観察方法をコンピュータ28から実行したときの動作について説明する。

【0036】まず、コンピュータ28から実行の指令が制御部27に発せられると、この制御部27は、ステップ#1において、コンピュータ28からの実行指令を受け、次のステップ#2においてX・Yガルバノミラー14a、14bによる走査が往路か復路かを判断し、先ず往路であることからステップ#3に移ってレーザユニット1の音響光学素子9にArレーザ装置3の励起レーザ光の選択指令を発する。

【0037】この音響光学素子9は、Arレーザ装置3、HeNe-Gレーザ装置4又はHeNe-Rレーザ装置5のうちArレーザ装置3から出力される励起波長488nmの励起レーザ光を選択し、シングルモードファイバ10に導く。

【0038】これと同時に、制御部27は、ステップ#4において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長488nmを標本2に照射したときの蛍光色素FITCから発せられる中心波長520nmの蛍光の最適径である105μmに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール20のピンホール径は、蛍光色素FITCの蛍光の中心波長520nmに最適な105μm径に開閉制御される。

【0039】上記励起波長488nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバ10を介してスキャンユニット11に導かれる。そして、この励起レーザ光は、コリメートレンズ12により平行光に整形され、励起ダイクロイックミラー13により反射され、X・Yガルバノミラー14a、14bにより走査され、さらに瞳投影レンズ15を透過し、ミラー16で下方に反射され、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。このとき光スポットは、標本2上の水平方向の往路方向に走査される。

【0040】このように標本2上に走査されたときに発生する蛍光色素FITCによる中心波長520nmの蛍光は、上記照明光路とは逆方向、すなわち対物レンズ18から結像レンズ17、ミラー16、瞳投影レンズ15、X・Yガルバノミラー14a、14bに進み、励起ダイクロイックミラー13を透過して共焦点レンズ19に入射する。そして、蛍光は、共焦点レンズ19により集光されて共焦点ピンホール20上に結像する。

【0041】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光

色素FITCの蛍光の中心波長520nmに最適な105μm径に開閉制御されており、この共焦点ピンホール20を透過した蛍光色素FITCの蛍光は、分光ダイクロイックミラー22により反射され、バリアフィルタ23により不要なレーザ反射光がカットされ、FITCの蛍光のみが1CH側光検出器24に入射する。

【0042】制御部27は、ステップ#5において、1CH側光検出器24からの信号を取り込む。このとき制御部27は、分光ダイクロイックミラー22を透過する漏れ光を検出しないように2CH側光検出器26を電氣的に検出光を測定できない状態にする。

【0043】そして、制御部27は、1CH側光検出器24からの信号の取り込みを、Xガルバノミラー14aによる水平方向の往路の走査の間の各画素毎に行う。

【0044】次に、Xガルバノミラー14aによる水平方向の往路の走査が終了し、復路に移ると、制御部27は、ステップ#6に移って、レーザユニット1の音響光学素子9にHeNe-Rレーザ装置5の励起レーザ光の選択指令を発し、このHeNe-Rレーザ装置5から励起波長633nmの励起レーザ光を選択出力してシングルモードファイバ10に導く。

【0045】これと同時に、制御部27は、ステップ#7において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長633nmを標本2に照射したときの蛍光色素Cy5から発せられる中心波長670nmの蛍光の最適径である135μmに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール20のピンホール径は、蛍光色素Cy5の蛍光の中心波長670nmに最適な135μm径に開閉制御される。

【0046】上記励起波長633nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバ10を介してスキャンユニット11に導かれる。そして、この励起レーザ光は、コリメートレンズ12により平行光に整形され、励起ダイクロイックミラー13により反射され、X・Yガルバノミラー14a、14bにより走査され、さらに瞳投影レンズ15を透過し、ミラー16で下方に反射され、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。このとき光スポットは、標本2上の水平方向の復路方向に走査される。

【0047】このように標本2上に走査されたときに発生する蛍光色素Cy5による中心波長670nmの蛍光は、上記照明光路とは逆方向、すなわち対物レンズ18から結像レンズ17、ミラー16、瞳投影レンズ15、X・Yガルバノミラー14a、14bに進み、励起ダイクロイックミラー13を透過して共焦点レンズ19に入射する。そして、蛍光は、共焦点レンズ19により集光されて共焦点ピンホール20上に結像する。

【0048】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光色素Cy5の蛍光の中心波長670nmに最適な135μm径に開閉制御されており、この共焦点ピンホール2

0を透過した蛍光色素Cy5の蛍光は、分光ダイクロイックミラー22を透過し、バリアフィルタ25により不要なレーザ反射光がカットされ、Cy5の蛍光のみが2CH側光検出器26に入射する。

【0049】制御部27は、ステップ#8において、2CH側光検出器26からの信号を取り込む。このとき制御部27は、分光ダイクロイックミラー22で反射する漏れ光を検出しないように1CH側光検出器24を電氣的に検出光を測定できない状態にする。

【0050】この制御部27は、2CH側光検出器26からの信号の取り込みを、Xガルバノミラー14aによる水平方向の復路走査中の各画素毎に行う。

【0051】そして、Xガルバノミラー14aによる往復の走査が終了すると、制御部27は、ステップ#9において、Xガルバノミラー14aによる水平走査ラインが最終ラインに達したか判断される。

【0052】ステップ#9で水平走査ラインが最終ラインに達していれば処理は終了するが、ステップ#9で水平走査ラインが最終ラインに達していないと判断されると、ステップ#10において、Yガルバノミラー14bにより標本2上の光スポットを垂直方向に1画素分走査する。

【0053】これ以降、以上説明したのと同様に、Xガルバノミラー14aの走査による往路においてレーザ波長488nmを選択し、共焦点ピンホール径を105 μ mに開閉制御し、1CH側光検出器24により蛍光色素FITCに対応した蛍光を検出し、復路においてレーザ波長633nmを選択し、共焦点ピンホール径を135 μ mに開閉制御し、2CH側光検出器26により蛍光色素Cy5に対応した蛍光を検出する。これらのレーザ波長選択と、共焦点ピンホール20のピンホール径の制御と、1CH側又は2CH側検出器24、26の選択とを、Yガルバノミラー14bを走査しながら垂直方向の1画素毎に繰り返し行う。

【0054】そして、制御部27は、1CH側光検出器24から取り込んだ蛍光色素FITCに対応した信号と2CH側光検出器26から取り込んだ蛍光色素Cy5に対応した信号とを色分けし、例えばモニターに1つの多重染色蛍光画像として表示する。

【0055】このように上記第1の実施の形態においては、Xガルバノミラー14aの往路においてレーザ波長488nmを選択すると共に、蛍光色素FITCに対応した蛍光に最適な共焦点ピンホール径105 μ mに開閉制御し、復路においてレーザ波長633nmを選択すると共に、蛍光色素Cy5に対応した蛍光に最適な共焦点ピンホール径135 μ mに開閉制御するので、1つの画像を時分割で2種類の蛍光色素FITCとCy5とに対応した各蛍光を検出するときに、蛍光波長毎に最適な共焦点ピンホール20のピンホール径に開閉制御でき、2種類の蛍光においてクロストークがなく、かつ検出する

蛍光毎に最適な共焦点効果を得ることができる。

【0056】なお、上記第1の実施の形態は、次の通り変形してもよい。

【0057】例えば、上記第1の実施の形態では、蛍光色素FITCとCy5の各蛍光を取得する時分割の単位を往復走査によるライン単位で行っているが、これを例えば1回の画像取得で2フレーム分走査するようにして、フレーム毎に時分割してもよい。この場合、最初のフレーム走査で、レーザ波長、共焦点ピンホール径、光検出器の設定をFITCの蛍光を取得するように切り替えて制御して1CH側光検出器24によりFITCの蛍光を取得し、次のフレーム走査でレーザ波長、共焦点ピンホール径、光検出器の設定をCy5の蛍光を取得するように制御して2CH側光検出器26によりCy5の蛍光を取得することになる。

【0058】又、1画素走査中に、2つの蛍光を時分割して検出してもよい。この場合、1つの画素を検出するときに、最初に、レーザ波長、共焦点ピンホール径、光検出器の設定を蛍光色素FITCの蛍光を取得するように制御して1CH側光検出器24によりFITCの蛍光を取得し、次に同一画素上でレーザ波長、共焦点ピンホール径、光検出器の設定をCy5の蛍光を取得するように切り替えて制御して2CH側光検出器26によりCy5の蛍光を取得する。そして、全ての画素において、上記蛍光色素FITC及びCy5の蛍光検出を行う。1画素中に2つの蛍光を切換えて取得する本変形例では、フレーム走査毎の時分割検出やXガルバノミラー14aの往路と復路での時分割検出に比べ、2つの蛍光を取得する時間的な遅れをかなり少なくできる。

【0059】(2)次に、本発明の第2の実施の形態について図面を参照して説明する。なお、図1と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。

【0060】図3は走査型光学顕微鏡の構成図である。この走査型光学顕微鏡は、上記第1の実施の形態における分光ダイクロイックミラー22、バリアフィルタ23及び1CH側光検出器24をなくして1つの光検出器(上記第1の実施の形態における2CH側光検出器)26のみを用いて2つの蛍光を取得するものである。

【0061】制御部30は、コンピュータ28から実行の指令が入力されると、図4に示す画像取得制御フローチャートに従って、蛍光色素FITC及びCy5に2重染色された標本2の画像取得が実行される。制御部30は、Xガルバノミラー14aの駆動による往路走査においてレーザユニット1からArレーザ装置3を選択すると共に共焦点ピンホール20のピンホール径を蛍光色素FITCの蛍光波長に最適なピンホール径105 μ mに開閉制御し、検出器24からの信号を蛍光色素FITCによる信号として取り込んで蛍光色素FITCに対応した不図示のメモリ部に蓄積し、かつXガルバノミラー14aの駆動による復路走査においてレーザユニット1から

HeNe-Rレーザ装置5を選択すると共に共焦点ピンホール20のピンホール径を蛍光色素Cy5の蛍光波長に最適なピンホール径135 μ mに開閉制御し、検出器26からの信号を蛍光色素Cy5による信号として取り込んで蛍光色素Cy5に対応した不図示のメモリ部に蓄積し、これら蛍光色素FITCに対応した信号と蛍光色素Cy5に対応した信号とを色分けし、例えばモニターに1つの多重染色蛍光画像として表示する機能を有している。

【0062】又、光検出器26の前方に配置するバリアフィルタ31は、2つの励起波長488nm、633nmの両方をカットすると共に、蛍光色素FITCとCy5とに対応した2つの蛍光の蛍光波長領域を透過させる特性を持たせるか、又は励起波長488nmをカットして蛍光色素FITCの蛍光波長を透過させる特性を持つFITC用バリアフィルタと、励起波長633nmをカットして蛍光色素Cy5の蛍光波長を透過させる特性を持つCy5用バリアフィルタとの2種類のバリアフィルタを、各蛍光の検出時間に同期させて電動式の機構により切り替えるようにする。

【0063】次に、上記の如く構成された走査型光学顕微鏡での画像取得方法について図4に示す画像取得制御フローチャートに従って説明する。

【0064】先ず、コンピュータ28から実行の指令が制御部30に発せられると、この制御部30は、ステップ#10において、コンピュータ28からの実行指令を受け、次のステップ#11においてXガルバノミラー14aによる走査が往路か復路かを判断し、先ず往路であることからステップ#12に移ってレーザユニット1の音響光学素子9に選択指令を発してArレーザ装置3を選択させ、このArレーザ装置3から励起波長488nmの励起レーザ光を出力させる。

【0065】これと同時に、制御部30は、ステップ#13において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長488nmの励起レーザ光を標本2に照射したときの蛍光色素FITCの蛍光の中心波長520nmにより算出される最適径である105 μ mに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール20のピンホール径は、蛍光色素FITCに対応した中心波長520nmの蛍光に最適な105 μ m径に開閉制御される。

【0066】上記励起波長488nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバー10を介してスキャンユニット11に導かれ、コリメートレンズ12、励起ダイクロイックミラー13、X・Yガルバノミラー14a、14b、さらに瞳投影レンズ15、ミラー16、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。

【0067】この標本2からの蛍光色素FITCに対応する中心波長520nmの蛍光は、上記照明光路とは逆

方向を進行して共焦点レンズ19に入射し、共焦点ピンホール20上に結像する。

【0068】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光色素FITCに対応した中心波長520nmの蛍光に最適な105 μ m径に開閉制御されているので、この共焦点ピンホール20を通過し、バリアフィルタ31を透過して光検出器26に入射する。

【0069】制御部30は、ステップ#14において、光検出器26からの信号を蛍光色素FITCの蛍光の信号として取り込んで不図示のメモリ部に蓄積する。この制御部30は、Xガルバノミラー14aによる水平方向の往路の走査の間の各画素毎に光検出器26からの信号を取り込む。

【0070】次に、Xガルバノミラー14aによる水平方向の往路の走査が終了し、ステップ#11に戻り、復路に移ると、制御部30は、ステップ#15に移って、レーザユニット1の音響光学素子9に選択指令を発してHeNe-Rレーザ装置5を選択させ、このHeNe-Rレーザ装置5から励起波長633nmの励起レーザ光を出力させる。

【0071】これと同時に、制御部30は、ステップ#16において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長633nmの励起レーザ光を標本2に照射したときの蛍光色素Cy5に対応した中心波長670nmの蛍光に最適径である135 μ mに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール20のピンホール径は、蛍光色素Cy5に対応した中心波長670nmの蛍光に最適な135 μ m径に開閉制御される。

【0072】上記励起波長633nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバー10を介してスキャンユニット11に導かれ、コリメートレンズ12、励起ダイクロイックミラー13、X・Yガルバノミラー14a、14b、さらに瞳投影レンズ15、ミラー16、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。

【0073】この標本2からの蛍光色素FITCに対応した中心波長670nmの蛍光は、上記照明光路とは逆方向を進行して共焦点レンズ19に入射し、共焦点ピンホール20上に結像する。

【0074】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光色素Cy5に対応した中心波長670nmの蛍光に最適な135 μ m径に開閉制御されているので、この共焦点ピンホール20を通過し、バリアフィルタ31を透過して光検出器26に入射する。

【0075】制御部30は、ステップ#17において、光検出器26からの信号を蛍光色素Cy5の蛍光の信号として取り込んで不図示のメモリ部に蓄積する。この制御部30は、Xガルバノミラー14aによる水平方向の復路走査中の各画素毎に光検出器26からの信号を取り

込む。

【0076】そして、Xガルバノミラー14aによる往復の走査が終了すると、制御部30は、ステップ#18において、Xガルバノミラー14aによる水平走査ラインが最終ラインに達したか判断される。

【0077】ステップ#18で水平走査ラインが最終ラインに達していれば処理は終了するが、ステップ#18で水平走査ラインが最終ラインに達していないと判断されると、ステップ#19において、Yガルバノミラー14bにより標本2上の光スポットを垂直方向に1画素分走査する。

【0078】これ以降、以上説明したのと同様に、Xガルバノミラー14aの往路においてレーザ波長488nmを選択し、共焦点ピンホール径を105μmに開閉制御し、光検出器26により蛍光色素FITCによる蛍光を検出し、復路においてレーザ波長633nmを選択し、共焦点ピンホール径を135μmに開閉制御し、光検出器26により蛍光色素Cy5による蛍光を検出する。そうして、制御部30は、蛍光色素FITCによる

$$\begin{aligned} \text{共焦点ピンホール径} &= 1.22X \cdot \lambda / \text{NA} \\ &= 1.22X \cdot 0.59 / 0.006 \\ &= 120\mu\text{m} \end{aligned}$$

となる。なお、共焦点ピンホール20に入射する蛍光のNAは、蛍光色素FITCとCy5との場合と同様に、NA=0.006としている。

【0083】従って、制御部40は、コンピュータ28から実行の指令が入力されると、図6に示す画像取得制御フローチャートに従って、蛍光色素FITC、PI、Cy5に3重染色された標本2の画像を取得する場合、1画素上で、レーザユニット1から先ずはArレーザ装置3の励起レーザ光を選択すると共に共焦点ピンホール20のピンホール径を蛍光色素FITCに対応する蛍光波長に最適なピンホール径105μmに開閉制御し、次にHeNe-Gレーザ装置4の励起レーザ光を選択すると共に共焦点ピンホール20のピンホール径を蛍光色素PIに対応する蛍光波長に最適なピンホール径120μmに開閉制御し、次にHeNe-Rレーザ装置5のレーザ光を選択すると共に共焦点ピンホール20のピンホール径を蛍光色素Cy5に対応する蛍光波長に最適なピンホール径135μmに開閉制御し、これら選択に同期して検出器26からの信号を蛍光色素FITCによる信号として取り込んで蛍光色素FITCに対応する不図示のメモリ部に蓄積し、次に検出器26からの信号を蛍光色素PIによる信号として取り込んで蛍光色素PIに対応する不図示のメモリ部に蓄積し、次に検出器26からの信号を蛍光色素Cy5による信号として取り込んで蛍光色素Cy5に対応する不図示のメモリ部に蓄積する。これらの動作をX・Yガルバノミラー14a、14bにより走査しながら全ての画素について行う。そして、各画素毎に蓄積された蛍光色素FITC、PI、Cy5によ

信号と蛍光色素Cy5による信号とを色分けし、例えばモニターに1つの多重染色蛍光画像として表示する。

【0079】このように上記第2の実施の形態によれば、上記第1の実施の形態の効果に加えて光検出器1個を節約できる。

【0080】(3)次に、本発明の第3の実施の形態について図面を参照して説明する。なお、図3と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。

【0081】図5は走査型光学顕微鏡の構成図である。この走査型光学顕微鏡は、1つの光検出器26で蛍光色素FITCとPIとCy5に対応する3つの蛍光を時分割で取得する。ここでは、上記第1の実施の形態の変形例として記載した1画素走査中に3つの蛍光を時分割で取得する方法について説明する。

【0082】蛍光色素PIを染色した標本2に対して励起波長543nmの励起レーザ光で励起すると、中心波長590nmの蛍光が発せられる。このとき、蛍光色素PIに対する蛍光の最適な共焦点ピンホール20のピンホール径は、

$$\dots(4)$$

る各信号を色分けし、例えばモニターに1つの多重染色蛍光画像として表示する機能を有している。

【0084】又、光検出器26の前方に配置するバリアフィルタ41は、3つの励起波長488nm、543nm、633nmを全てカットすると共に、蛍光色素FITC、PI、Cy5に対応する3つの蛍光の蛍光波長領域を透過させる特性を持たせるか、又は励起波長488nmをカットして蛍光色素FITCの蛍光波長を透過させる特性を持つFITC用バリアフィルタと、励起波長543nmをカットして蛍光色素PIの蛍光波長を透過させる特性を持つPI用バリアフィルタと、励起波長633nmをカットして蛍光色素Cy5の蛍光波長を透過させる特性を持つCy5用バリアフィルタとの3種類のバリアフィルタを、各蛍光の検出時間に同期させて電動式の機構により切り替えるようにする。

【0085】次に、上記の如く構成された走査型光学顕微鏡での画像取得方法について図6に示す画像取得制御フローチャートに従って説明する。

【0086】先ず、コンピュータ28から実行の指令が制御部40に発せられると、この制御部40は、ステップ#20において、X・Yガルバノミラー14a、14bを駆動して最初の1画素に対応する標本2上の1点にスポット光が結像するように移動し、その後X・Yガルバノミラー14a、14bを固定する。

【0087】制御部40は、ステップ#21において、3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5のうちFITC→PI→Cy5の順序で測定することから、次のステップ#22に移り、レーザユニット1の音響光学素子9

に選択指令を発してArレーザ装置3の層レーザ光を選択させ、このArレーザ装置3から励起波長488nmの励起レーザ光を出力させる。

【0088】これと同時に、制御部40は、ステップ#23において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長488nmの励起レーザ光を標本2に照射したときの蛍光色素FITCの蛍光の中心波長520nmにより算出される最適径である105μmに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール20のピンホール径は、蛍光色素FITCの蛍光の中心波長520nmに最適な105μm径に開閉制御される。

【0089】上記励起波長488nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバー10を介してスキャンユニット11に導かれ、コリメートレンズ12、励起ダイクロイックミラー13、X・Yガルバノミラー14a、14b、さらに瞳投影レンズ15、ミラー16、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。

【0090】この標本2からの蛍光色素FITCに対応する中心波長520nmの蛍光は、上記照明光路とは逆方向を進行して共焦点レンズ19に入射し、共焦点ピンホール20上に結像する。

【0091】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光色素FITCに対応した中心波長520nmの蛍光に最適な105μm径に開閉制御されているので、この共焦点ピンホール20を通過し、バリアフィルタ41を透過して光検出器26に入射する。

【0092】制御部40は、ステップ#24において、光検出器26からの信号を蛍光色素FITCの蛍光の信号として取り込んで蛍光色素FITCに対応する不図示のメモリ部に蓄積する。

【0093】次に、制御部40は、ステップ#25において、1画素に対して3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5の各蛍光の検出が終了したかを判断し、3種類全ての蛍光検出が終了していなければ、再びステップ#21に戻って次に蛍光測定する蛍光色素、ここではPI又はCy5を判断する。

【0094】この判断の結果、制御部40は、ステップ#21から#27に移り、同一画素上において、レーザユニット1の音響光学素子9に選択指令を発してHeNe-Gレーザ装置4の励起レーザ光を選択させ、このHeNe-Gレーザ装置4から励起波長543nmの励起レーザ光を出力させる。

【0095】これと同時に、制御部40は、ステップ#28において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長543nmの励起レーザ光を標本2に照射したときの蛍光色素PIに対応する中心波長590nmの波長に最適径である120μmに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール2

0のピンホール径は、蛍光色素PIの蛍光の中心波長590nmに最適な120μm径に開閉制御される。

【0096】上記励起波長543nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバー10を介してスキャンユニット11に導かれ、コリメートレンズ12、励起ダイクロイックミラー13、X・Yガルバノミラー14a、14b、さらに瞳投影レンズ15、ミラー16、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。

10 【0097】この標本2からの蛍光色素PIに対応する中心波長590nmの蛍光は、上記照明光路とは逆方向を進行して共焦点レンズ19に入射し、共焦点ピンホール20上に結像する。

【0098】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光色素PIに対応した中心波長590nmの蛍光に最適な120μm径に開閉制御されているので、この共焦点ピンホール20を通過し、バリアフィルタ41を透過して光検出器26に入射する。

【0099】制御部40は、ステップ#24に移って光検出器26からの信号を蛍光色素PIの蛍光の信号として取り込んで蛍光色素PIに対応する不図示のメモリ部に蓄積する。

【0100】次に、制御部40は、再びステップ#25において、1画素に対して3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5の各蛍光の検出が終了したかを判断し、3種類全ての蛍光検出が終了していなければ、再びステップ#21に戻って次に蛍光測定する蛍光色素、ここではCy5を判断する。

【0101】この判断の結果、制御部40は、ステップ#21から#29に移り、同一画素上において、レーザユニット1の音響光学素子9に選択指令を発してHeNe-Rレーザ装置5の励起レーザ光を選択させ、このHeNe-Rレーザ装置5から励起波長633nmの励起レーザ光を出力させる。

【0102】これと同時に、制御部40は、ステップ#30において、共焦点ピンホール20のピンホール径を、励起波長633nmの励起レーザ光を標本2に照射したときの蛍光色素Cy5に対応する中心波長670nmの蛍光に最適径である135μmに制御する指令を駆動機構21に発する。これにより、共焦点ピンホール20のピンホール径は、蛍光色素Cy5の蛍光の中心波長670nmに最適な135μm径に開閉制御される。

【0103】上記励起波長633nmの励起レーザ光は、シングルモードファイバー10を介してスキャンユニット11に導かれ、コリメータレンズ12、励起ダイクロイックミラー13、X・Yガルバノミラー14a、14b、さらに瞳投影レンズ15、ミラー16、結像レンズ17、対物レンズ18などを通して標本2上に光スポットとして結像される。

50 【0104】この標本2からの蛍光色素FITCに対応

した中心波長670nmの蛍光は、上記照明光路とは逆方向を進行して共焦点レンズ19に入射し、共焦点ピンホール20上に結像する。

【0105】このとき、共焦点ピンホール20は、蛍光色素Cy5に対応する中心波長670nmの蛍光に最適な135 μ m径に開閉制御されているので、この共焦点ピンホール20を通過し、バリアフィルタ31を透過して光検出器26に入射する。

【0106】制御部40は、ステップ#24において、光検出器26からの信号を蛍光色素Cy5の蛍光の信号として取り込んで蛍光色素Cy5に対応する不図示のメモリ部に蓄積する。

【0107】次に、制御部40は、再びステップ#25において、1画素に対して3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5の各蛍光の検出が終了したかを判断し、3種類全ての蛍光検出が終了すれば、次のステップ#26に移り、Xガルバノミラー14a又はX・Yガルバノミラー14a、14bにより走査された画素が最終ラインの最終画素に達したかを判断される。

【0108】ステップ#26で最終ラインの最終画素に走査された画素が達していれば、処理は終了するが、ステップ#26で最終ラインの最終画素に走査された画素が達していなければ、次のステップ#27に移り、Xガルバノミラー14a又はX・Yガルバノミラー14a、14bにより次の1画素毎にスポット光を固定照射する。

【0109】これ以降、以上説明したものと同様に、X・Yガルバノミラー14a、14bにより1画素毎にスポット光を固定照射し、蛍光色素FITCに対応する蛍光を検出するために共焦点ピンホール径を105 μ mに開閉制御し、次に蛍光色素PIに対応する蛍光を検出するために共焦点ピンホール径を120 μ mに開閉制御し、次に蛍光色素Cy5に対応する蛍光を検出するために共焦点ピンホール径を135 μ mに開閉制御し、これら蛍光色素FITC、PI、Cy5による信号を不図示の各メモリ部に蓄積する動作を全ての画素に対して行う。

【0110】そして、制御部40は、蛍光色素FITCによる信号と蛍光色素PIによる信号と蛍光色素Cy5による信号とを色分けし、例えばモニターに1つの多重染色蛍光画像として表示する。

【0111】このように上記第3の実施の形態によれば、1個の光検出器26を用いて3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5の各蛍光波長毎に最適な共焦点ピンホール20のピンホール径を設定して、これら3種類の蛍光波長毎の信号を時分割で取得でき、3種類全ての蛍光に対してクロストークがなく、かつ最適な共焦点効果を得ることができる。

【0112】なお、本発明は、上記第1乃至第3の実施の形態に限定されるものでなく、実施段階ではその要旨

を逸脱しない範囲で種々に変形することが可能である。

【0113】さらに、上記実施形態には、種々の段階の発明が含まれており、開示されている複数の構成要件における適宜な組み合わせにより種々の発明が抽出できる。例えば、実施形態に示されている全構成要件から幾つかの構成要件が削除されても、発明が解決しようとする課題の欄で述べた課題が解決でき、発明の効果の欄で述べられている効果が得られる場合には、この構成要件が削除された構成が発明として抽出できる。

10 【0114】例えば、3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5を順次切り替えてその蛍光を得るようにしているが、これら蛍光色素FITC、PI、Cy5の切り替え順序は限定されるものでなく、ランダムに切替えてもよい。

【0115】又、3種類の蛍光色素FITC、PI、Cy5に限らず、他の蛍光色素を用いてもよい。

20 【0116】又、上記第1乃至第3の実施の形態では、各励起波長の切り替えを励起レーザ光の往復走査（ライン単位）、フレーム単位又は1画素単位で行っているが、これに限らず、励起レーザ光の走査に同期してさえいけば励起波長を切り替えることが可能である。

【0117】

【発明の効果】以上詳記したように本発明によれば、複数の蛍光を検出するときに、全ての蛍光においてクロストークがなく、かつ検出する蛍光毎に最適な共焦点効果を得ることができる画像取得方法及び走査型光学顕微鏡を提供できる。

【図面の簡単な説明】

30 【図1】本発明に係わる走査型光学顕微鏡の第1の実施の形態を示す構成図。

【図2】本発明に係わる走査型光学顕微鏡の第1の実施の形態における画像取得制御フローチャート。

【図3】本発明に係わる走査型光学顕微鏡の第2の実施の形態を示す構成図。

【図4】本発明に係わる走査型光学顕微鏡の第2の実施の形態における画像取得制御フローチャート。

【図5】本発明に係わる走査型光学顕微鏡の第3の実施の形態を示す構成図。

40 【図6】本発明に係わる走査型光学顕微鏡の第3の実施の形態における画像取得制御フローチャート。

【図7】各蛍光試薬の染色された標本からの蛍光のクロストークを示す図。

【符号の説明】

- 1：レーザユニット
- 2：標本（多重染色蛍光標本）
- 3：Arレーザ装置
- 4：HeNe-Gレーザ装置
- 5：HeNe-Rレーザ装置
- 6：ミラー
- 50 7、8：ダイクロイックミラー

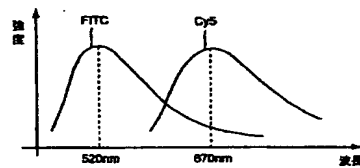
19

- 9 : 音響光学素子 (AOTF)
- 10 : シングルモードファイバ
- 11 : スキャンユニット
- 12 : コリメートレンズ
- 13 : 励起ダイクロイックミラー
- 14 a, 14 b : X・Yガルバノミラー
- 15 : 瞳投影レンズ
- 16 : ミラー
- 17 : 結像レンズ
- 18 : 対物レンズ

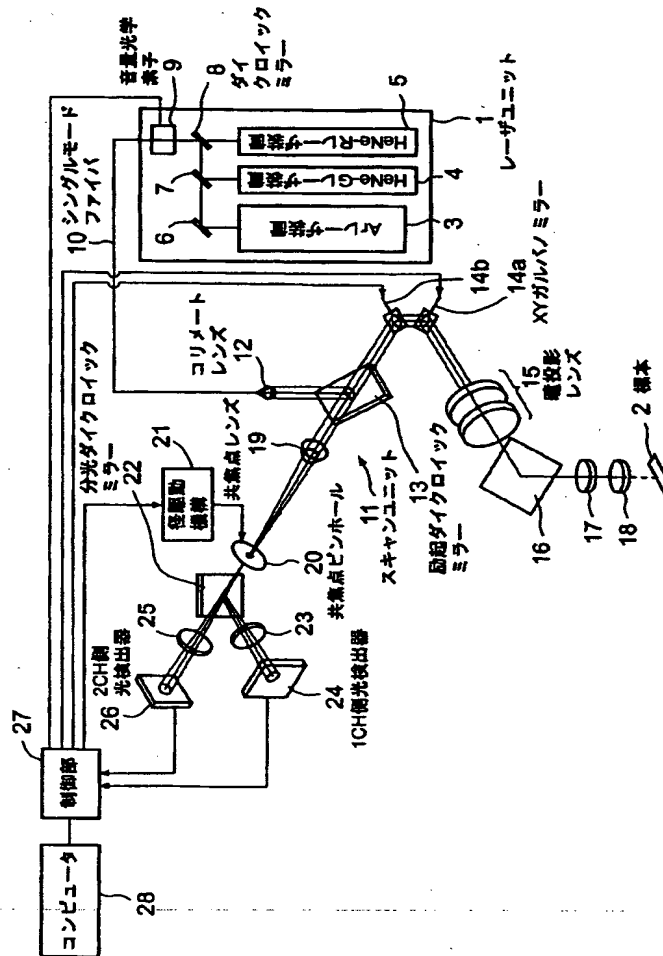
20

- 19 : 共焦点レンズ
- 20 : 共焦点ピンホール
- 21 : 径駆動機構
- 22 : 分光ダイクロイックミラー
- 23 : バリアフィルタ
- 24 : 1 CH側光検出器
- 25 : バリアフィルタ
- 26 : 2 CH側光検出器
- 27, 30, 40 : 制御部
- 10 28 : コンピュータ

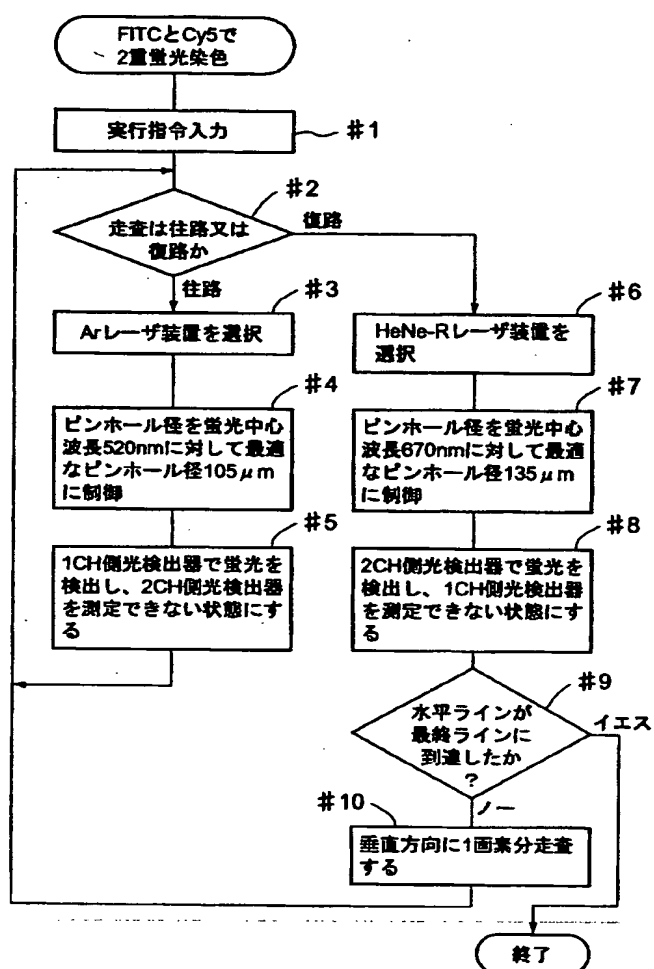
【図7】



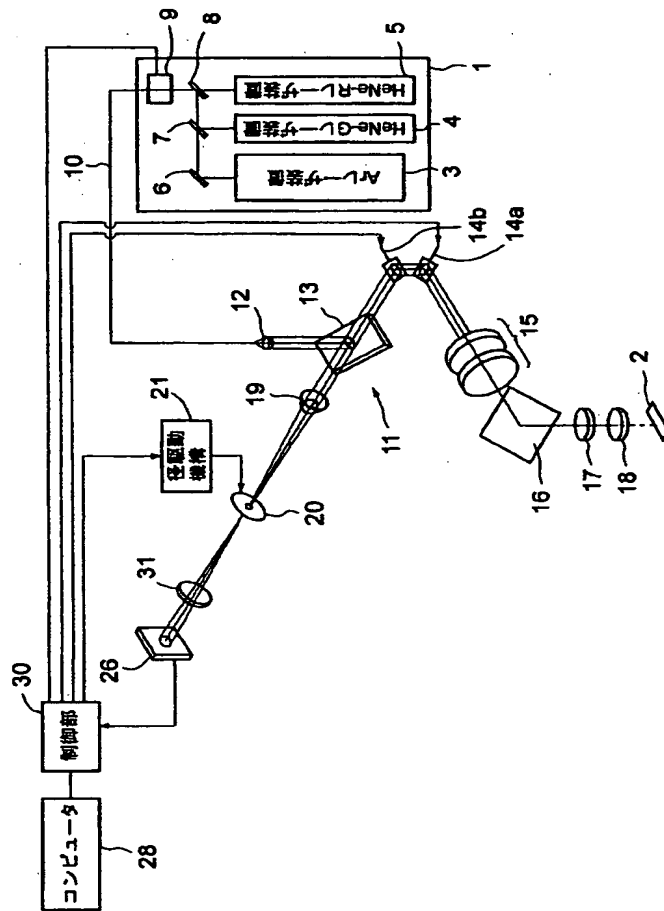
【図1】



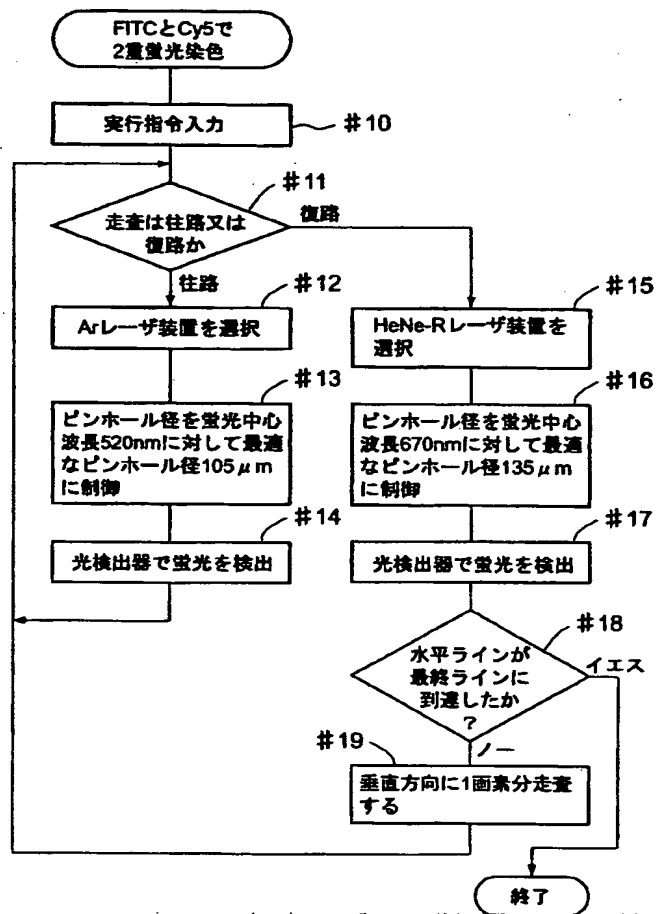
【図2】



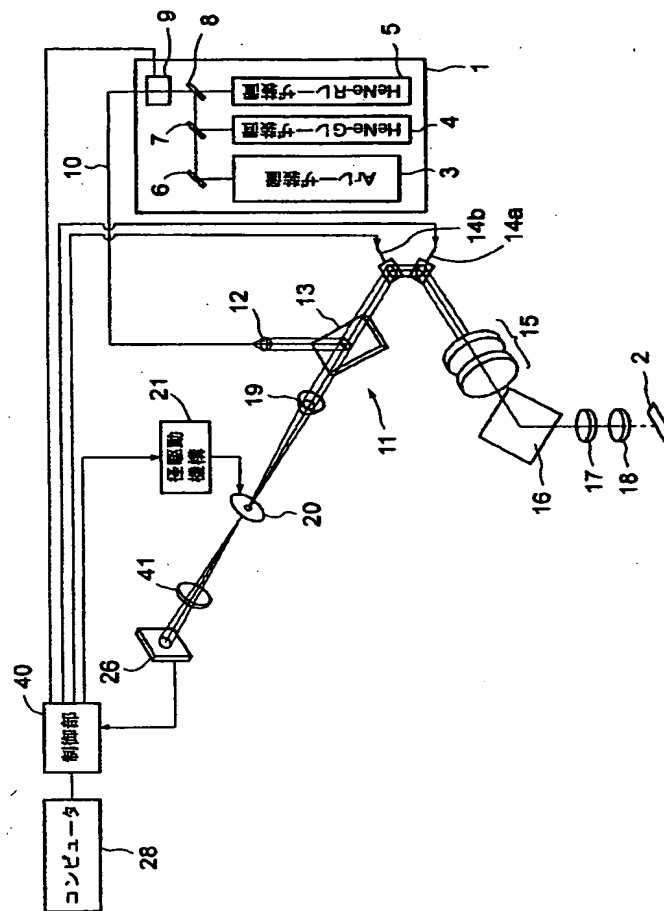
【図3】



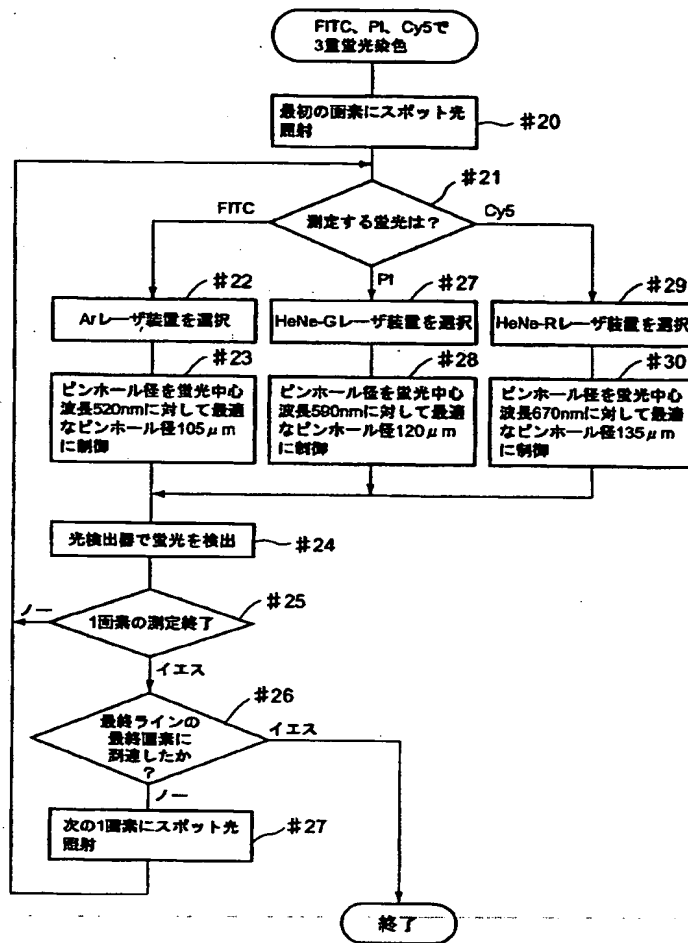
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2F064 MM03 MM04 MM17 MM36

2G043 AA03 DA02 EA01 FA01 FA02

FA06 GA02 GA04 GB02 GB17

GB18 GB19 GB21 HA01 HA02

HA09 HA15 JA03 KA05 KA09

LA01 MA01 MA11 NA04

2H045 AB01 DA31

2H052 AA08 AA09 AC04 AC15 AC26

AC34 AD31 AF06